Agilent 6540 LC-QTOF を用いた シア脂中のトリグリセライドの分析

<要旨>
LC-QTOF を用いてトリグリセライド標準品の精密質量を測定し、得られた保持時間及び精密質量(理論値)から成るデータベースを作成しました。データベース検索の応用例として、シアナッツから抽出したシア脂の TIC を用いて、データベース検索を行ったところ、シア脂中に含まれるトリグリセライドの迅速で簡便なスクリーニングに、本法が有効であることがわかりました。

Key Words: トリグリセライド、シア脂、植物脂、精密質量、LC-TOF、LC-QTOF、APCI

＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊＊

１．はじめに

シア脂は、アフリカのサバンナ地帯原産で、赤道北部の国々で生成されているシアナッツから得られる植物脂で、構成脂肪酸として不飽和脂肪酸のオレイン酸を多く含みます。また、他の植物脂とは異なり、常温で固体であることが特徴で、主成分のトリグリセライド(以下 TAG)の他に、トリテルペン誘導体も含んでいることが知られています。シア脂は食用や薬として利用される以外に、石鹸やクリームなどにも配合されています。皮膚の保湿を保つ化粧品クリームとして、ロクシタン(L'Occitane)のシアバターが有名です。シア脂に限らず TAG の分析はこれまで GC を用いる手法が一般的ですが、イオン化に APCI を用いる LCMS を用いることで、誘導体化等の前処理を行わずに分析できることが知られています。[1)] ここでは、24 種類の TAG 標準品を用いて保持時間と精密質量(理論値)から成るデータベースを作成し、シア脂中に含まれる TAG のスクリーニングにデータベース検索を応用した例を 紹介します。

1) D.D.Vincenzo, J.Agri.Food.Chem.,56, 7473 2005, N.Gotoh J.Oleo.Sci., 55 457. 2006, S Wada, Lipid Tech. 116 2001

２．実験条件

Table 1 に分析条件をまとめて示しました。

Table 1 Analytical conditons for LCMS

HPLC		MS	
Instrument	Agilent1290 series	Instrument	Agilent6540 QTOF
	Binary Pump(G4220A)	Mass range	100 - 1700(m/z)
	Well Autosampler (G4226A)	Polarity	Positive
	Column Oven (G1316C)	Ionization	APCI
		Vaporizer	400 °C
Column	Develosil C30-UG-3 (x 2)	Corona current	4μA
	(4.6 x250mm, 3μm)	Nebulizer	N_2 (40 psi)
Mobile phase	A;Isopropyl alcohol (2mM $HCOONH_4$)	Drying gas	N_2 (8L/min)
	B; CH_3CN	Drygas temp.	350 °C
Gradient	B% min	Reference ion	m/z 121.050873
	80 0		m/z 922.009795
	30 30	Mode	MS (4GHz)
	30 70	Fragmentor	150V
Flow rate	0.8 ml/min		
Oven temp.	40°C		
Injection vol.	10μl		
Sample	Sample 250ng/μl		

Sample:

OOO, OOL, OLO, LOL, LLO, OOP, OPO, OPS, OSP, POS, PLO, PLP, PLS, POP, PPO, PPP, SLL, SOO, SOS, SSO, SSS, LLL, AdAdO, AdOO 月島食品工業（株）製

O: Oleic acid, L: Linoleic acid, P: Palmitic acid, S:Stearic acid, Ad: Arachidic acid

シア脂：Cote d'Ivoire 産ナッツから抽出

3. 結果および考察

Fig.1 に 24 種類の TAG 標準品の TIC をそれぞれ示した。また、Fig.2 にそれぞれのマススペクトルを示

しました。

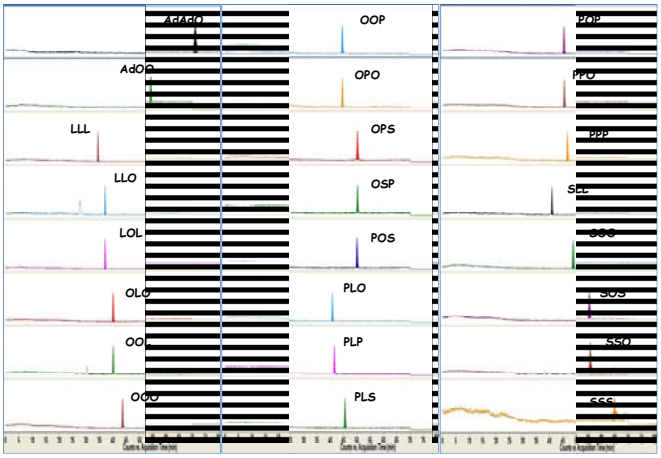

Fig.1 TIC of standard TAGs

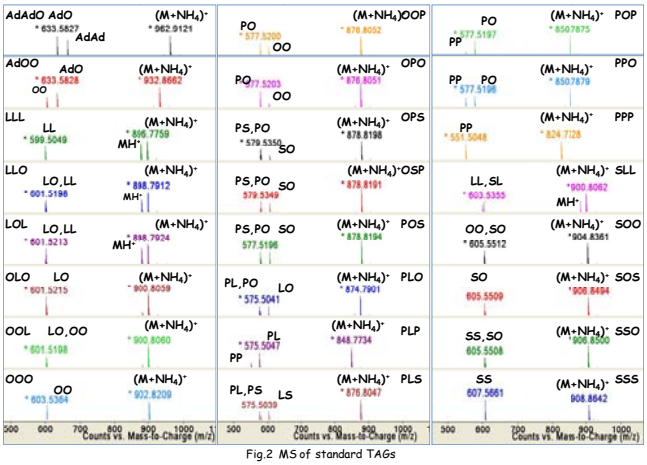

Fig.2 MS of standard TAGs

Fig.1 から、例えば OOO-OLO-LLO のように組成の異なる TAG をクロマトグラフィックに分離検出できることが分かりました。Fig.2 のマススペクトルから TAG は分子量関連イオンとして MH^+ よりも $(M+NH_4)^+$の強度が大きいことが分かりました。また、脂肪酸エステルが 1 個脱離したジグリセリドイオンが生成し易いことも分かりました。LOL-LLO のような TAG 組成の同じ異性体のクロマトグラフィックな分離は難しいものの、ジグリセリドイオンの強度、例えば LO と LL の MH^+の強度比較は、異性体の帰属に有効であると思われます。

Fig.3 にシア脂(Cote d'Ivoire 産ナッツから抽出)の TIC を示しました。Table 2 に TAG 標準品を用いて作成したデータベース（csv 形式）を用いて検索した結果を示しました。保持時間と精密質量の両方を用いて検索することにより、false positive なヒットを減らすことが可能です。一方、精密質量だけで検索する方法は、異性体や標準品のない化合物のスクリーニングに有効です。なお、Fig.1 の Triterpene cinnametes の帰属も標準品を用いて行いました。

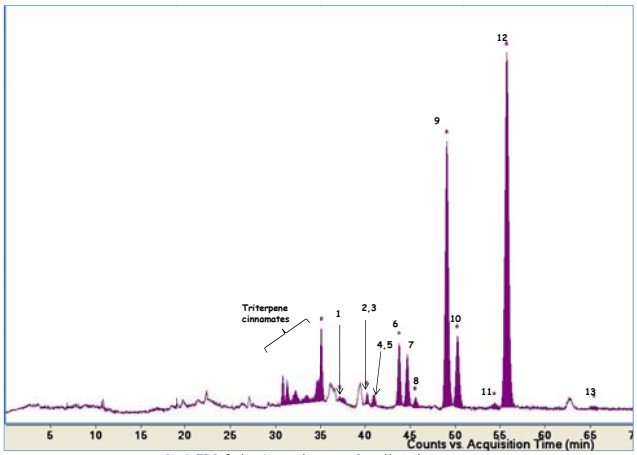

Fig.3 TIC of Shea butter (native to Cote d'Ivoire)

Table 3 Result of database search for Shea butter

Cpd	RT	Name	Formula	RT (DB)	Diff (DB, ppm)	Mass
1	37.2	LLO LOL	C57 H100 O6	37.1	0.88	880.7511
2	40.2	OLO OOL	C57 H102 O6	40.1	0.57	882.7671
3	40.9	PLO	C55 H100 O6	40.8	0.80	856.7512
4	41.0	SLL	C57 H102 O6	40.9	0.99	882.7667
5	41.7	PLP	C53 H98 O6	41.6	0.75	830.7357
6	43.8	OOO	C57 H104 O6	43.6	-0.14	884.7833
7	44.6	POO OPO	C55 H102 O6	44.5	0.46	858.7673
8	45.6	PLS	C55 H102 O6	45.6	0.78	858.7669
9	49.1	SOO	C57 H106 O6	48.8	-0.10	886.7990
10	50.2	OPS OSP POS	C55 H104 O6	50.2	0.10	860.7831
11	54.4	AdOO	C59 H110 O6	54.3	0.87	914.8294
12	55.8	SOS	C57 H108 O6	55.4	-0.21	888.8147
13	65.4	SSS	C57 H110 O6	64.9	0.72	890.8296

４．まとめ

植物脂（シア脂）の TIC を用いて行うデータベース検索は、簡便で迅速なトリグリセリドのスクリーニング法であることが分かりました。今後は MSMS スペクトルを用いたより詳細な構造解析や、スクリーニング法と多変量解析法を組み合わせて、原産国とシア脂に含まれるトリグリセリド組成や量比の違いなどについて検討を行う予定です。

【LCMS-201106SM-002】

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
www.agilent.com/chem/jp